https://doi.org/10.29296/25877305-2020-05-20

Исследование роли β-дефенсина-2 в грудном молоке при атопическом дерматите у детей

Ю.А. Бунина (Богуславская)[1],
А.В. Кудрявцева[1, 2], доктор медицинских наук, профессор,
Е.П. Быстрицкая[2],
Г.Н. Усатова[2],
К.Ю. Левина[1],
О.А. Свитич[1, 2]
[1]Первый МГМУ им. И.М. Сеченова (Сеченовский Университет)
[2]Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова, Москва
E-mail: kudassia@gmail.com

Цель работы. *Оценить ассоциацию концентрации β-дефенсина-2 в грудном молоке матери с риском развитием атопического дерматита (АтД) у детей.*

Материал и методы. *Проведено исследование, участники которого были поделены на 2 группы: дети, страдающие АтД и здоровые дети. Было собрано 25 образцов грудного молока: основная группа от матерей с детьми с АтД и группа сравнения – от матерей со здоровыми детьми. Материалом исследования для выделения β-дефенсина-2 явилось грудное молоко. Выделение β-дефенсина-2 проводилось с помощью иммуноферментного анализа.*

Результаты и обсуждение. *Обнаружено, что в грудном молоке матерей, чьи дети были здоровы, фоновый уровень β-дефенсинов-2 составил 209,6 пг/мл. В грудном молоке матерей, чьи дети страдали АтД в легкой форме, концентрация β-дефенсина-2 была ниже – 166,3 пг/мл. В грудном молоке матерей, чьи дети имели среднетяжелое течение АтД, концентрация β-дефенсина-2 была значительно ниже, чем в первой группе (71,2 пг/мл). Снижение концентрации β-дефенсина-2 в грудном молоке может быть одним из ранних прогностических критериев более тяжелого течения АтД у детей раннего возраста.*

Ключевые слова: дефенсины, грудное молоко, атопический дерматит, врожденный иммунитет.

Для цитирования: Бунина (Богуславская) Ю.А., Кудрявцева А.В., Быстрицкая Е.П. и др. Исследование роли β-дефенсина-2 в грудном молоке при атопическом дерматите у детей. Врач. 2020; 31 (5): 85–87. https://doi.org/10.29296/25877305-2020-05-20

Атопический дерматит (АтД) представляет собой хроническое воспалительное заболевание кожи, возникающее преимущественно на первом году жизни ребенка. Отличительными чертами АтД являются кожный зуд и рецидивирующее воспаление кожных покровов. Несостоятельность кожного барьера, снижение противоинфекционной защиты со стороны врожденного иммунитета, дизрегуляцию между Th1- и Th2-лимфоцитами относят к основным звеньям патогенеза этого заболевания, приводящим к развитию местного воспалительного процесса [1]. Важную роль в функционировании врожденного иммунитета кожи играют антимикробные пептиды (АМП), продуцируемые кератиноцитами. АМП присутствуют во многих тканях и биологических жидкостях организма, в том числе в крови, слюне и коже. Они обеспечивают постоянную защиту организма от микробной инвазии [2]. Снижение экспрессии генов антимикробных пептидов в коже при АтД может обусловливать обсеменение ее условно-патогенной микрофлорой, среди которой основную роль отводят золотистому стафилококку *(Staphylococcus aureus)* [3]. При АтД, особенно при прогрессирующем его течении, *S. aureus* способен поддерживать местный воспалительный процесс, приводя к частым рецидивам и резистентности к стандартной наружной терапии заболевания [4].

Дебют АтД чаще всего приходится на первые полгода жизни ребенка [1], на период формирования эпителиальных барьеров – кожного и кишечного. Их несостоятельность, высокая проницаемость могут способствовать сенсибилизации ребенка к чужеродным белкам. Грудное молоко матери играет ключевую роль в формировании эпителиального барьера кишечника, предупреждая развитие пищевой аллергии [5]. В отличие от пищевой аллергии, где было показано профилактическое действие исключительно грудного вскармливания (ГВ), недавние научные исследования однозначно не доказали исключительного влияния ГВ на риск развития АтД [6, 7]. Как именно может реализовываться профилактическое влияние ГВ на развитие аллергической патологии, пока неизвестно [8]. В грудном молоке найдено большое число биологически активных веществ, которые способны оказывать влияние на развитие кишечного барьера у ребенка [9]. Из биологически активных веществ в грудном молоке наиболее изучены дефенсины, лактоферрин, лактадгерин и некоторые олигосахариды.

Сегодня известно 3 типа дефенсинов: α-дефенсины, определяемые преимущественно в нейтрофилах, β-дефенсины, определяемые в эпителиальных клетках и лейкоцитах в различных органах, и τ-дефенсины, не обнаруженные у человека. Человеческие дефенсины – это небольшие катионные пептиды, которые подразделяют на α- и β-дефенсины, в зависимости от паттерна экспрессии и расположения 3 интрамолекулярных дисульфидных связей [10].

β-Дефенсины-2 представляют собой белки, которые выделяются эпителиальными клетками и лейкоцитами. Они обладают противовирусным, антибактериальным и фунгицидным действием [11]. β-Дефенсины-1 были выявлены в эпителии молочных желез у человека [12]. Также их обнаружили в молозиве и грудном молоке матерей доношенных и недоношенных детей [13].

Роль биологически активных веществ (растворимые Toll-подобные рецепторы, растворимые CD14, лактад-

герин, лактоферрин, β-дефенсины) грудного молока заключается в их противовоспалительном действии на слизистую кишечника [14]. Снижение фоновой концентрации β-дефенсинов в материнском молоке может приводить к нарушениям со стороны микробиоценоза и воспалительным реакциям в слизистой кишечника, что в свою очередь может снижать защитную роль кишечного эпителиального барьера у ребенка, способствуя высокой проницаемости кишечника и развитию сенсибилизации.

Целью работы было исследование ассоциации β-дефенсина-2 в грудном молоке матери с риском развития АтД у детей.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В исследовании приняли участие 25 пациентов, которых распределили на 2 группы. Материалом для исследования служило грудное молоко от матерей, чьи дети страдают АтД (14 образцов; основная группа) и матерей со здоровыми детьми (11 образцов; группа сравнения). Дебют заболевания отмечался в среднем в 6,0±1,5 мес при легком течении АтД и в 5,3±2,1 мес – при среднетяжелом течении АтД (см. таблицу). Диагноз АтД ставился согласно диагностическим критериям Ж. Ханифин и Х. Райка (1980). Тяжесть кожного синдрома оценивалась с помощью шкалы SCORAD:

- 0–20 баллов – легкое;
- 20–40 баллов – среднетяжелое;
- ≥40 баллов – тяжелое течение.

Критерии включения в исследование. Молоко было собрано у матерей, дети которых находились исключительно на ГВ, и получали грудное молоко и прикорм твердой пищей. В исследование включались дети (n=14), которые заболели АтД в течение прошедших 6 мес (дебют заболевания) и до момента взятия молока на анализ находились на ГВ.

Критерии исключения из исследования. Мы не включали в исследование детей на смешанном вскармливании. Также в исследование не включались матери, получавшие антибактериальную терапию на момент взятия молока.

Все дети основной группы получали стандартную местную терапию АтД: глюкокортикостероидами, антибактериальными препаратами при признаках вторичного инфицирования очагов поражения, эмоллиенты наружно. Путем ручного сцеживания (врачом или матерью) в стерильный контейнер получали около 5 мл грудного молока из обеих молочных желез. Иммуноферментный анализ (ИФА) для определения β-дефенсинов 2-го типа проводился с помощью набора ELISA Kit for Defensin Beta 2 (DEFb2) в соответствии с инструкцией фирмы-производителя.

Средний возраст детей на ГВ составил 6,5±4,9 мес. В ходе исследования было выделено 2 группы. В 1-ю группу было включены 14 образцов грудного молока от 14 матерей, чьи дети в течение последних 6 мес заболели АтД. В этой группе было выделено 2 подгруппы – дети с легко протекающим АтД (в среднем 14,5±13,4 балла по шкале SCORAD; средний возраст – 9,0±1,4 мес) и дети с АтД средней степени тяжести (в среднем 36,5±2,1 балла по шкале SCORAD; средний возраст – 12,5±9,2 мес). Средний возраст всех детей в 1-й группе составил 9,0±2,4 мес. Во 2-ю группу вошли образцы грудного молока от 11 матерей здоровых детей (средний возраст – 11,5±4,9 мес).

В связи с тем, что число пациентов было <30, использовались непараметрические критерии оценки. Данные представлены в виде медианы и интерквартильного размаха (25-й и 75-й процентили). Статистически значимый результат оценивался с помощью U-критерия Манна–Уитни.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В ходе исследования установлено, что в грудном молоке матерей, чьи дети здоровы, определяется фоновый уровень β-дефенсинов-2 209,6 пг/мл. В грудном молоке матерей, чьи дети страдают АтД в легкой форме, концентрация β-дефенсина-2 была ниже (166,3 пг/мл). Однако в этой группе в 56% случаев концентрация β-дефенсина-2 приближалась таковой в группе здоровых детей. В остальных 44% случаев концентрация β-дефенсина-2 была более чем в 2 раза ниже, чем в группе здоровых детей. В грудном молоке матерей, чьи дети больны АтД средней степени тяжести, концентрация β-дефенсина-2 была значительно ниже, чем в 1-й группе (71,2 пг/мл) .

В нашей работе показана ассоциация снижения концентрации β-дефенсина-2 в грудном молоке со степенью тяжести АтД у детей на ГВ. Известно, что в грудном молоке содержится множество защитных фак-

Характеристика пациентов
Case reports

Показатель	Контрольная группа (соматически здоровые дети)	Основная группа (дети с установленным диагнозом АтД)	
		легкой степени	средней степени
Средний возраст, мес	6,5±4,9		
	11,5±4,9	9,0±1,4	12,5±9,2
Число образцов грудного молока	11	7	7
Средний возраст дебюта АтД, мес	–	6,0±1,5	5,3±2,1
Пол, % мужской женский	 63,6 36,4	 42,8 57,2	 71,4 28,6
Оценка по шкале SCORAD, баллы	0	14,5±13,4	36,5±2,1

торов врожденного и приобретенного иммунитета, в том числе антимикробные пептиды, которые могут оказывать влияние на формирование кишечного защитного барьера у грудного ребенка [13, 15]. Вскармливание ребенка является одним из ключевых моментов в созревании кишечного барьера и формирования его защитных свойств [16]. Также доказано, что исключительно ГВ в первые 4–6 мес жизни является профилактикой развития аллергических болезней.

Дефенсины грудного молока играют ключевую роль в защите грудного ребенка от патогенных микробов, также опосредованно, через регуляцию Toll-подобных рецепторов, они влияют на формирование иммунной системы кишечника. В то же время симбиотические бактерии, представляющие собой нормальную микрофлору кишечника, и некоторые пробиотические культуры могут индуцировать выработку β-дефенсинов в кишечнике [9].

В ходе нашей работе впервые была выявлена ассоциация между дефенсинами в грудном молоке и риском развития АтД у детей. Действительно, при более тяжелом течении АтД фоновый уровень β-дефенсина-2 в молоке матери снижается. Однако причинно-следственные связи в этой ассоциации требуют дальнейшего изучения на бóльшей выборке пациентов. Факт обнаружения снижения уровня β-дефенсина-2 у некоторых детей в группе АтД легкого течения в нашей работе может прогнозировать более тяжелое течение заболевания в дальнейшем, что диктует необходимость проведения исследований именно в этой области в будущем. Дефенсины грудного молока могут быть прогностическим критерием тяжести течения АтД у грудных детей. Изучение дефенсинов грудного молока может дать нам новое понимание мишеней для создания методов терапии детского АтД и применения пробиотических культур бактерий в комплексном лечении данного заболевания.

Можно сделать вывод о том, что снижение концентрации β-дефенсина-2 в грудном молоке может быть одним из прогностических критериев более тяжелого течения АтД у детей раннего возраста, находящихся на ГВ. Необходимо продолжить изучать влияние АМП на развитие АтД у детей.

* * *

Конфликт интересов отсутствует.

Литература/Reference

1. Wollenberg A., Barbarot S., Bieber T. et al. Consensus based European guidelines for treatment of atopic eczema (atopic dermatitis) in adults and children: part I. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2018; 32: 657–82. DOI: 10.1111/jdv.14891
2. Niyonsaba F., Nagaoka I., Ogawa H. et al. Multifunctional antimicrobial proteins and peptides: natural activators of immune systems. *Curr Pharm Des*. 2009; 15 (21): 2393–413. DOI: 10.2174/138161209788682271
3. Lee S.H., Jeong S.K., Ahn S.K. An update of the defensive barrier function of skin. *Yonsei Med J*. 2006; 47: 293–306. DOI: 10.3349/ymj.2006.47.3.293
4. Кудрявцева А.В., Катосова Л.К., Балаболкин И.П. и др. Роль золотистого стафилококка при атопическом дерматите у детей. *Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Сперанского*. 2003; 6 (82): 32–6 [Kudryavtseva A.V., Katosova L.K., Balabolkin I.I. et al. Role of Staphylococcus aureus in pediatric atopic dermatitis. *Pediatria. Journal named after G.N.Speransky*. 2003; 82 (6): 32–6 (in Russ.)].
5. Fleischer D.M., Spergel J.M., Assa A.H. et al. Primary prevention of allergic disease through nutritional interventions. *J Allergy Clin Immunol Pract*. 2008; 1: 29–36. DOI: 10.1016/j.jaip.2012.09.003
6. Gdalevich M., Mimouni D., David M. et al. Breast-feeding and the onset of atopic dermatitis in childhood: A systematic review and meta-analysis of prospective studies. *J Am Acad Dermatol*. 2001; 45: 520–7. DOI: 10.1067/mjd.2001.114741
7. Ito J., Fujiwara T. Breastfeeding and risk of atopic dermatitis up to the age 42 months: A birth cohort study in Japan. *Ann Epidemiol*. 2014; 24: 267–72. DOI: 10.1016/j.annepidem.2013.11.007
8. Munblit D., Treneva M., Peroni D.G. et al. Immune Components in Human Milk Are Associated with Early Infant Immunological Health Outcomes: A Prospective Three-Country Analysis. *Nutrients*. 2017; 9 (6): 532. DOI: 10.3390/nu9060532
9. Jakaitis B.M., Denning P.W. Human breast milk and the gastrointestinal innate immune system. *Clin Perinatol*. 2014; 41 (2): 423–35. DOI: 10.1016/j.clp.2014.02.011
10. Hakansson A.P. Protective effects of human milk antimicrobial peptides against bacterial infection. *J Pediatr (Rio J.)*. 2015; 91 (1): 4–5. *https://doi.org/10.1016/j.jped.2014.10.001*
11. Metz-Boutigue M.-H., Shooshtarizadeh P., Prevost G. et al. Antimicrobial Peptides Present in Mammalian Skin and Gut are Multifunctional Defence Molecules. *Curr Pharm Des*. 2010; 16: 1024. *https://doi.org/10.2174/138161210790963823,*
12. Tunzi C.R., Harper P.A., Bar-Oz B. et al. Beta-defensin expression in human mammary gland epithelia. *Pediatr Res*. 2000; 48: 30–5. DOI: 10.1203/00006450-200007000-00008
13. Baricelli J., Rocafull M.A., Vázquez D. et al. β-Defensin-2 in breast milk displays a broad antimicrobial activity against pathogenic bacteria. *J Pediatr (Rio J.)*. 2015; 91 (1): 36–43. *https://doi.org/10.1016/j.jped.2014.05.006*
14. Jing Wu, Ruo-Lan Gong, Qing-Feng Hu et al. Immunoregulatory effect of human β-defensin 1 on neonatal cord blood monocyte-derived dendritic cells and T cells. *Mol Immunol*. 2019; 109: 99–107. *https://doi.org/10.1016/j.molimm.2019.03.007*.
15. Savilahti E.M., Kukkonen A.K., Kuitunen M., et al. Soluble CD14, α- and β-defensins in breast milk: Association with the emergence of allergy in a high-risk population. *Innate Immunity*. 2015; 21 (3): 332–7. *https://doi.org/10.1177/1753425914541560*
16. Rachid R., Chatila T.A. The role of the gut microbiota in food allergy. *Curr Opin Pediatr*. 2016; 6 (28): 748–75. DOI: 10.1097/MOP.0000000000000427

INVESTIGATION OF β-DEFENSIN-2 IN BREAST MILK IN INFANT ATOPIC DERMATITIS

Yu. Bunina *(Boguslavskaya)1; Professor* ***A. Kudryavtseva***[1, 2]*, MD;* ***E. Bystritskaya***[2]*;* ***G. Usatova***[2]*;* ***K. Levina***[1]*;* ***O. Svitich***[1, 2]

[1]*I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University)*

[2]*I.I. Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera, Moscow*

Purpose. *To assess the link between β-defensin-2concentration in breastmilk with the severity of AD in its debut in infants and young children.*

Materials and methods. *25 samples of breastmilk were analyzed. 2 groups were selected. The first group included 14 samples from mothers whose children got AD in the last 6 months: mild AD and moderate AD. Analysis of breastmilk samples by the enzyme-linked immunosorbent assay was conducted to find the β-defensin-2 concentration. ELISA Kit for β-Defensin-2 (DEFb2) was used.*

Results and discussion. *We have showed that in the breastmilk of healthy children mothers a background level of the β-defensin 2 is detected (209,6 pg/ml). In the case of mild AD the concentration of β-defensin 2 was lower (HBD-2 – 166,3 pg/ml. In breastmilk of mothers whose children had moderate AD the level of β-defensin-2 concentration was significantly lower than in the first group (HBD-2 – 71,2 pg/ml). Thus we can make a conclusion that the decrease of the β-defensin-2 concentration in the breastmilk can be one of prognostic criteria of more severe AD in infants and young children.*

Key words: *defensin, breastmilk, atopic dermatitis, innate immunity.*

For citation: *Bunina (Boguslavskaya) Yu., Kudryavtseva A., Bystritskaya E. et al. Investigation of β-defensin-2 in breast milk in infant atopic dermatitis. Vrach. 2020; 31 (5): 85–87. https://doi.org/10.29296/25877305-2020-05-20*